

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
8 juillet 2004 (08.07.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/056210 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
A23L 1/308. A61K 31/70

(74) Mandataires : DEMACHY, Charles etc.; Gros-
set-Fournier & Demachy sarl, 54, rue Saint-Lazare,
F-75009 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2003/003770

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SK,
SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU,
ZA, ZM, ZW.

(22) Date de dépôt international :
17 décembre 2003 (17.12.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
02/16136 18 décembre 2002 (18.12.2002) FR

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :
INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE
AGRONOMIQUE [FR/FR]; 147, rue de l'Université,
F-75338 Paris Cedex 07 (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) :
RAYSSIGUIER, Yves [FR/FR]; 9, rue Jacques
Prévert Saulzet-le-Chaud, F-63540 Romagnat (FR).
BUSSEROLLES, Jérômes [FR/FR]; 12, rue de Busset,
F-03200 Le Vernet (FR). MAZUR, André [FR/FR]; 10,
rue des Pervenches, F-63800 Courmon (FR). GUEUX,
Elyett [FR/FR]; Le Berzet, F-63122 Saint Genes Cham-
panelle (FR).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des
revendications, sera republiée si des modifications sont re-
çues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: USE OF PREBIOTICS FOR PREVENTING OR TREATING OXIDATION STRESS

(54) Titre : UTILISATION DE PREBIOTIQUES POUR PREVENIR OU TRAITER LE STRESS OXYDANT

(57) Abstract: The invention concerns the use of prebiotics for preparing food preparations, functional foods, or pharmaceutical compositions for preventing or treating oxidation stress related in particular to fructose consumption. The invention also concerns a food preparation comprising simple carbohydrates, in particular fructose, associated with prebiotics.

(57) Abrégé : L'invention concerne l'utilisation de prébiotiques pour la préparation de préparations alimentaires, d'aliments, ou de compositions pharmaceutiques destinés à la prévention ou au traitement du stress oxydant lié notamment à la consommation de fructose. L'invention concerne également une préparation alimentaire comprenant des glucides simples, notamment du fructose, en association avec des prébiotiques.

WO 2004/056210 A1

UTILISATION DE PREBIOTIQUES POUR PREVENIR OU TRAITER LE STRESS OXYDANT

La présente invention a pour objet l'utilisation de prébiotiques pour la préparation de préparations alimentaires, d'alicaments, ou de compositions pharmaceutiques destinés à la prévention ou au traitement du stress oxydant.

Le stress oxydant est le résultat d'un déséquilibre au sein de l'organisme en faveur des espèces pro-oxydantes par rapport aux espèces anti-oxydantes.

Les espèces pro-oxydantes sont d'une manière générale des radicaux libres et notamment des radicaux libres oxygénés. La présence d'un électron non apparié rend ces composés extrêmement réactifs vis-à-vis des macromolécules biologiques de l'organisme ; les lipides, les glucides, les protéines et les acides nucléiques sont ainsi des cibles privilégiées de ces espèces. La dégradation oxydative de ces macromolécules entraîne de nombreux dysfonctionnements cellulaires.

L'origine de ces radicaux libres prend essentiellement sa source dans le métabolisme de l'oxygène. La plus grande partie du stress oxydant provient du métabolisme énergétique. L'étape finale de l'oxydation des aliments, à savoir la chaîne respiratoire mitochondriale, est ainsi à l'origine de la formation de radicaux libres oxygénés. De plus, au cours de la réaction inflammatoire, la stimulation des cellules phagocytaires s'accompagne également de la formation de radicaux libres.

Les défenses anti-oxydantes de l'organisme font appel à des systèmes protéiques, tels que la superoxyde dismutase, mais également à des composés anti-oxydants apportés par l'alimentation, tels que les vitamines C et E, ou d'autres nutriments, comme les caroténoïdes, les polyphénols ou les flavonoïdes.

Des déséquilibres alimentaires peuvent être à l'origine du stress oxydant. Les Inventeurs ont en particulier montré précédemment qu'une alimentation trop riche en sucres, et notamment en saccharose (Busserolles et *al.*, 2002a) et en fructose (Busserolles et *al.*, 2002b), pouvait générer un stress oxydant important. Ces effets pro-oxydants sont d'autant plus importants que l'alimentation est appauvrie en antioxydants.

Le fructose est un monosaccharide dont la consommation a fortement augmenté, soit en tant que tel soit sous forme de saccharose. Du fait de leur faible coût d'obtention, les sirops riches en fructose issus du maïs sont préférentiellement utilisés dans les boissons sucrées. Alors que le fructose est naturellement présent dans le miel et dans les fruits où il est associé à de nombreux micronutriments protecteurs, on peut s'interroger sur les conséquences pour la

santé, d'une augmentation sans limite de ce glucide sous forme purifiée. En effet, le fructose possède de nombreuses propriétés qui le distinguent des autres sucres et l'apport élevé de ce glucide pourrait être responsable d'effets métaboliques indésirables.

Les modalités de lutte contre le stress oxydant passent d'une manière générale par l'utilisation de nutriments anti-radicalaires ayant un effet direct sur les radicaux libres : les carotènes, l'acide ascorbique (vitamine C), les tocophérols (vitamine E), les polyphénols (brevet US n°6 207 702).

La présente invention découle de la mise en évidence par les Inventeurs du fait que les prébiotiques et plus particulièrement les fructo-oligosaccharides (FOS) permettent de lutter contre le stress oxydant résultant d'un excès de fructose dans l'alimentation.

Les prébiotiques sont des glucides complexes non-digestibles dégradés par les micro-organismes de la flore intestinale et dont la dégradation est responsable d'effets bénéfiques pour la santé de l'hôte. Ces micro-organismes sont en règle générale des bactéries, et notamment des bifidobactéries, que l'on retrouve essentiellement dans le colon. Les effets bénéfiques provoqués par lesdits micro-organismes peuvent être dus à la stimulation sélective de la croissance de certaines espèces de micro-organismes, notamment les bifidobactéries, et/ou à la libération de métabolites issus de la transformation des prébiotiques par les micro-organismes.

En l'état actuel, les seuls pré-biotiques clairement définis sont des polymères de sucres de degré de polymérisation compris entre 2 et 12, classés parmi les glucides complexes : les oligosaccharides. On peut ainsi citer, outre les fructo-oligosaccharides dont les effets sont les plus documentés, les fructanes, les galacto-oligosaccharides, les xylo-oligosaccharides, les oligosaccharides de soja, les gentio-oligosaccharides ou encore les isomalto-oligosaccharides.

Les fructo-oligosaccharides (FOS) sont obtenus soit par hydrolyse de l'inuline, soit par synthèse enzymatique, par transfructosylation à partir de précurseurs saccharidiques. Ils répondent à la formule générale Glucosyl-(Fructosyl)_n-Fructose ou (Fructosyl)_m-Fructose où n représente un nombre entier de 1 à 8 et m représente un nombre entier de 1 à 8. Dans la plupart des cas les préparations de FOS ne sont pas homogènes. Elles comportent des mélanges de chaînes de taille variable. Par ailleurs, dans le cas de la préparation des FOS par synthèse enzymatique, les polymères répondent à la formule Glucosyl-(Fructosyl)_n-Fructose (1 ≤ n ≤ 8), tandis que les FOS préparés par hydrolyse répondent aux deux formules Glucosyl-(Fructosyl)_n-Fructose et/ou (Fructosyl)_m-Fructose (1 ≤ n ≤ 8 et 1 ≤ m ≤ 8). Les FOS comprennent en particulier les fructo-oligosaccharides à chaîne courte, synthétisés par transfructosylation,

pour lesquels le degré de polymérisation est inférieur à 6, et notamment des FOS à chaîne courte à 2, 3 ou 4 unités fructoses tels que le 1-kestose, le nystose et le fructosyl-nystose

Les fructanes sont des polymères dans lesquels les liaisons de type fructosyl-fructose sont majoritaires.

5 Les galacto-oligosaccharides sont formés de 2 à 6 unités hexoses, ils comprennent principalement le galactose comme unité de base. Ils sont synthétisés par l'action de la β -galactosidase sur le lactose.

Les xylo-oligosaccharides sont issus de l'hydrolyse du xylane, ils sont composés de xylose.

10 Les oligosaccharides de soja sont extraits du soja, il s'agit principalement de mélanges d'oligosaccharides comprenant de 1 à 4 unités osidiques, les principaux composants étant le raffinose et le stachyose.

Les gentio-oligosaccharides sont des polymères issus de la digestion de l'amidon, pour lesquels la majeure partie des liaisons est de la forme β -glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-glucopyranose.

15 Les isomalto-saccharides sont également des polymères de glucose issus de l'hydrolyse de l'amidon, il s'agit de mélanges d'isomaltose, de panose, d'isomaltotriose et d'autres polymères branchés comptant 4 ou 5 unités glucoses.

20 Les Inventeurs ont montré que l'ajout de prébiotiques dans la ration alimentaire, avantageusement l'ajout de FOS, permettait de diminuer le stress oxydant dû en particulier à un régime alimentaire riche en sucres, et notamment en fructose.

L'invention a pour but de fournir de nouveaux moyens de prévenir ou de traiter le stress oxydant.

25 L'invention a pour objet l'utilisation de prébiotiques pour la préparation de préparations alimentaires, d'aliments, ou de compositions pharmaceutiques destinés à la prévention ou au traitement du stress oxydant.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée d'au moins un oligosaccharide choisis parmi :

- les fructanes
- les fructo-oligosaccharides (FOS)
- 30 - les galacto-oligosaccharides
- les xylo-oligosaccharides
- les oligosaccharides de soja
- les gentio-oligosaccharides
- les isomalto-oligosaccharides

tels que définis ci-dessus.

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation susmentionnée de fructo-oligosaccharides (FOS) de formule générale Glucosyl-(Fructosyl)_n-Fructose ou (Fructosyl)_m-Fructose où n représente un nombre entier de 1 à 8, notamment de 1 à 5, et m représente un
5 nombre entier de 1 à 8, notamment de 1 à 5, tels que les FOS à chaîne courte 1-kestose, nystose ou fructosyl-nystose.

L'invention a également pour objet l'utilisation de prébiotiques dans le cadre de la prévention ou du traitement du stress oxydant lié à la consommation de sucres.

10 L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation de prébiotiques dans le cadre de la prévention ou du traitement du stress oxydant lié à la consommation de fructose.

L'invention concerne notamment l'utilisation de prébiotiques dans le cadre de la prévention ou du traitement du stress oxydant dû à une consommation de fructose alimentaire supérieure à environ 50 g/jour en moyenne.

15 L'invention concerne également l'utilisation de prébiotiques, pour laquelle lesdits prébiotiques sont administrés à une dose journalière d'environ 1 g à environ 20 g, notamment d'environ 2 g à environ 17 g, notamment d'environ 5 g à environ 15 g.

L'invention a également pour objet l'utilisation de prébiotiques en tant que composés ayant un effet antiradicalaire dans le cadre de la prévention ou du traitement du stress oxydant.

20 L'invention a également pour objet l'utilisation de prébiotiques en tant que composés ayant un effet anti-vieillesse lié à un effet de protection des cellules de l'organisme contre l'action des radicaux libres.

L'invention concerne également toute préparation alimentaire comprenant des glucides simples en association avec des prébiotiques.

25 L'invention concerne plus particulièrement une préparation alimentaire comprenant :

- au moins un glucide simple tel que le fructose ou le saccharose,
- en association avec un ou plusieurs oligosaccharides choisis parmi :
 - les fructanes
 - les fructo-oligosaccharides (FOS)
 - 30 - les galacto-oligosaccharides
 - les xylo-oligosaccharides
 - les oligosaccharides de soja
 - les gentio-oligosaccharides
 - les isomalto-oligosaccharides

tels que définis ci-dessus.

Avantageusement la préparation alimentaire de l'invention est telle que la proportion en prébiotiques représente en poids au moins 5% de la quantité de glucides simples présents dans ladite préparation.

5 L'invention concerne notamment une préparation alimentaire pour laquelle la proportion en poids de fructo-oligosaccharides (FOS) par rapport à la quantité de fructose présent dans ladite préparation varie entre 10% et 100% et est notamment d'environ 15% à environ 35% et est notamment d'environ 20%.

10 L'invention concerne notamment une préparation alimentaire comprenant un mélange de fructo-oligosaccharides (FOS), tels que définis ci-dessus, comprenant 64% de Glucosyl-(Fructosyl)_n-Fructose et 36% de (Fructosyl)_m-Fructose de degrés de polymérisation moyens 4,8.

15 L'invention concerne plus particulièrement une préparation alimentaire comprenant un mélange de fructo-oligosaccharides (FOS), tels que définis ci-dessus, comprenant 64% de Glucosyl-(Fructosyl)_n-Fructose et 36% de (Fructosyl)_m-Fructose, de degrés de polymérisation moyens 4,8, la proportion en poids desdits FOS présents dans ladite préparation variant entre 10% et 100%, et étant notamment d'environ 15% à environ 35%, préférablement d'environ 20%, par rapport à la quantité de fructose présent dans ladite préparation.

20 Selon un mode de réalisation préféré, le mélange de FOS utilisé correspond à la préparation Raftilose® P₉₅ d'ORAFTI, Thienen, Belgique.

25 L'invention a également pour objet un produit alimentaire contenant la préparation alimentaire définie ci-dessus, ledit produit alimentaire étant choisi parmi un groupe comprenant les pâtisseries, les confiseries, les desserts, les boissons, les barres aux céréales, les barres chocolatées, les barres sucrées, les céréales de petit déjeuner, les produits laitiers et les compléments alimentaires.

Description de l'invention

Les Inventeurs ont montré, sur un modèle animal, que l'ajout de fructo-oligosaccharides (FOS) dans la ration alimentaire permettait de réduire le stress oxydant dû à une alimentation enrichie en fructose.

40 rats males sevrés de type Wistar-Han (IFFA-CREDO ; L'Arbresle, France) âgés de 6 semaines et pesant environ 150 g ont été utilisés. Les rats ont été placés dans des cages à fond grillagé dans une pièce à température contrôlée (22°C) avec des cycles jour/nuit de 12 heures. Les animaux ont été traités selon les recommandations du Comité Ethique de l'INRA, décret n°87-848.

Les rats ont tout d'abord été nourris suivant un régime semi-purifié à base d'amidon pendant 7 jours. Ils ont ensuite été divisés aléatoirement en 4 groupes de 10 rats : un groupe amidon (A), un groupe fructose (F), un groupe amidon + FOS (A/FOS) et un groupe fructose + FOS (F/FOS). Ils ont alors suivi leur régime alimentaire approprié durant 4 semaines.

La nourriture et l'eau distillée ont été fournies *ad libitum*. La composition des rations alimentaires était comme suit (en g/kg) :

	Groupe A	Groupe F	Groupe A/FOS	Groupe F/FOS
Amidon	650	-	550	-
Fructose	-	650	-	550
FOS (Raftilose® P ₉₅)	-	-	100	100
Caséine	200	200	200	200
Huile de maïs	50	50	50	50
Alphacel	50	50	50	50
Méthionine D,L	3	3	3	3
Bitartrate de choline	2	2	2	2
Mélange de minéraux (AIN-76)	35	35	35	35
Mélange de vitamines (AIN-76A)	10	10	10	10

Les mélanges AIN-76 et AIN-76A ont été fournis par ICN Biomedicals, Orsay, France.

Les FOS (Raftilose® P₉₅) ont été obtenus auprès d'ORAFIT, Thienen, Belgique. Ils ont été introduits dans l'alimentation progressivement afin d'éviter des diarrhées pouvant se déclencher en réponse à l'administration trop rapide de quantités importantes de ce composé. Le Raftilose® P₉₅ est un mélange de Glucosyl-(Fructosyl)_n-Fructose (64%) et de (Fructosyl)_m-Fructose (36%) de degrés de polymérisation moyen 4,8.

4 jours avant sacrifice, les animaux ont été maintenus individuellement dans des cages en acier inoxydable avec accès *ad libitum* à l'eau et à la nourriture. Des échantillons d'urine ont été récupérés 24 heures avant le sacrifice dans des tubes gradués de 50 ml, les volumes

ont été mesurés précisément, les échantillons ont alors été centrifugés et conservés à -80°C jusqu'à l'analyse. Au moment du sacrifice les rats ont été pesés, puis anesthésiés à l'aide de pentobarbital de sodium (injection intra-péritonéale de 40 mg/kg) et tués. Le sang a été prélevé à partir de l'aorte abdominale et récupéré dans des tubes héparinés. Le plasma obtenu
5 après centrifugation à basse vitesse (2000 g, 15 min) a été conservé à -80°C pour les analyses biochimiques. Le cœur a été prélevé rapidement puis lavé dans une solution saline glacée (NaCl 9 g/l), placé dans de l'azote liquide et conservé à -80°C .

Deux types de mesures bien connues de l'homme de l'art ont alors été réalisées afin de déterminer l'intensité du stress oxydant des animaux en fonction de leur régime alimentaire :
10 une mesure des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) et une mesure du rapport des concentrations plasmatiques en vitamine E et en triglycérides.

Une analyse statistique des résultats a été réalisée à l'aide du programme Statview (Abacus Concepts Inc., Berkeley, CA). Les données ont été exprimées comme la moyenne des résultats obtenus pour les 10 animaux de chaque groupe alimentaire \pm écart-type.
15 L'analyse de la variance (ANOVA ; $P < 0,05$) a été utilisée afin de déterminer les principaux effets (sucre et FOS) et leurs interactions. Les différences ont été considérées significatives lorsque $p < 0,05$.

Ces résultats indiquent que les animaux suivant le régime fructose sont soumis à un stress oxydant significativement supérieur à celui des animaux témoins (soumis au régime
20 amidon) et que l'ajout de FOS permet de réduire significativement le stress oxydant lié à la consommation de fructose.

Exemple 1

Mesure des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)

25 La mesure des TBARS permet d'évaluer le niveau de peroxydation lipidique d'un échantillon soumis à un stress oxydant. Plus la valeur des TBARS est importante plus le niveau du stress oxydant est élevé.

Les niveaux de TBARS plasmatiques ont été déterminés par spectrofluorométrie sur
30 un appareil LS 5 (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA). Une méthode adaptée d'Okhawa *et al.* (1979) a été utilisée comme précédemment décrit (Rayssiguier *et al.*, 1993). Le niveau des TBARS urinaires a été mesuré comme décrit dans Lee *et al.* (1992) et calculé sur la base d'un volume urinaire de 24 heures. Enfin, la mesure des TBARS cardiaques s'est basée sur Okhawa *et al.* (1979), ils permettent l'évaluation de la susceptibilité des lipides cardiaques à

la peroxydation. Les tissus cardiaques ont été homogénéisés sur la glace dans un rapport de 1 g de tissus frais pour 9 ml de KCl 150 mmol/l à l'aide d'un homogénéiseur Polytron, ces homogénats ont ensuite été soumis à une peroxydation lipidique induite par un mélange FeSO₄ (2 µmol/l) – ascorbate (50 µmol/l) pendant 30 min dans un bain à 37°C en absence d'oxygène, un témoin 1,1,3,3-tétraéthoxypropane a été utilisé ; les TBARS ont alors été mesurées par spectrophotométrie (Uvikon 941 plus series, Kontron Instruments, St Quentin en Yvelines, France).

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

	Régime alimentaire				Anova ^a		
	Amidon	Fructose	Amidon + FOS	Fructose + FOS	Sucre	FOS	Sucre x FOS
TBARS plasmatiques <i>nmol/ml</i>	1,94 ± 0,03	2,14 ± 0,07	1,84 ± 0,02	1,96 ± 0,04	<0,01	<0,01	NS
TBARS urinaires <i>nmol/24h</i>	11,99 ± 0,50	21,97 ± 1,58	13,40 ± 0,53	15,86 ± 1,19	<0,001	<0,05	<0,001
TBARS cardiaques <i>nmol/g de poids frais</i>	64,9 ± 4,1	98,8 ± 6,5	73,1 ± 3,5	83,5 ± 4,7	<0,001	NS	<0,05

Les résultats sont les moyennes calculées pour 10 animaux ± écart-type. ^a valeur de p pour l'ANOVA. Les résultats de l'ANOVA sont significatifs pour p < 0,05, NS, non significatifs

Les résultats indiquent que les TBARS plasmatiques, urinaires et cardiaques sont significativement plus élevées pour le groupe Fructose que pour le groupe Amidon. La consommation de fructose est donc responsable d'un stress oxydant plus important que celui dû à la consommation d'amidon.

Par ailleurs, les TBARS du groupe Fructose + FOS sont significativement plus faibles que celles du groupe Fructose et ne sont pas significativement différentes de celles du groupe Amidon + FOS. Les FOS permettent donc de limiter le stress oxydant dû à la consommation de fructose.

Exemple 2

Mesure du rapport plasmatique entre la vitamine E et les triglycérides

Le rapport vitamine E/triglycérides plasmatiques permet est un reflet du stress oxydant auquel a été soumis un organisme. Plus la valeur de ce rapport est faible plus le niveau du stress oxydant est important.

La mesure des concentrations de triglycérides plasmatiques a été réalisée à l'aide de procédures enzymatiques selon les recommandations du fournisseur (Biotrol, Paris, France). Un sérum témoin polyvalent (Biotrol-33-plus) a été traité en parallèle des échantillons afin de contrôler la précision des résultats de l'analyse plasmatique.

Les concentrations plasmatiques en vitamine E ont été déterminées par chromatographie liquide haute performance en phase inversée sur un appareil Kontron series 400 (Kontron St Quentin en Yvelines, France) à l'aide d'un extrait à l'hexane. De l'acétate d' α -tocophérol (Sigma) a été ajouté aux échantillons comme témoins interne. Les échantillons ont été extraits deux fois à l'hexane après précipitation des protéines à l'éthanol. L'extrait a été séché sous azote, dissous dans un mélange éthanol-chlorure de méthylène (65 : 35, v/v) et injecté sur une colonne C₁₈ (nucleosil ; 250 mm de longueur, d.i. 46 mm., particules de 5 μ m). Le méthanol pur a permis d'éluer l' α -tocophérol en 5 min et l'acétate de tocophérol en 6,3 min à un débit de 2 ml/min. Les composés ont été détectés par UV (292 nm) puis quantifiés par des calibrages internes et externes à l'aide de solutions témoins.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

	Régime alimentaire				Anova ^a		
	Amidon	Fructose	Amidon + FOS	Fructose + FOS	Sucre	FOS	Sucre x FOS
Triglycérides (TG) nmol/ml	1,76 \pm 0,21	3,73 \pm 0,45	1,47 \pm 0,11	2,49 \pm 0,26	<0,001	<0,05	NS
Vitamine E μ g/ml	9,01 \pm 0,54	9,74 \pm 0,92	7,21 \pm 0,35	8,74 \pm 0,62	NS	<0,05	NS
Vitamine E/TG μ g/mol TG	5,98 \pm 0,93	2,68 \pm 0,12	5,03 \pm 0,29	3,95 \pm 0,61	<0,001	NS	NS

Les résultats sont les moyennes calculées pour 10 animaux \pm écart-type. ^a valeur de p pour l'ANOVA. Les résultats de l'ANOVA sont significatifs pour p < 0,05, NS, non significatifs

15 Contrairement au régime amidon, le régime riche en fructose diminue le rapport Vitamine E/TG, ce qui témoigne de l'existence du stress oxydant.

La supplémentation en FOS prévient la diminution de ce rapport, en d'autres termes diminue le stress oxydant résultant de la consommation du régime riche en fructose.

REFERENCES

- Busserolles J., Rock E., Gueux E., Mazur A., Grolier P. et Rayssiguier Y., 2002a. Short term consumption of a high sucrose diet has a pro-oxydant effect in rats. *Brit. J. Nutr.*, 87(4) : 337-342.
- Busserolles J., Gueux E., Rock E., Mazur A. et Rayssiguier Y., 2002b. Substituting honey for refined carbohydrates protects against the pro-oxydant effect of a high fructose diet. *J. Nutr.*, 132(11) : 3379-82.
- Lee H.S., Shoeman D.W. et Csallany A.S., 1992. Urinary response to *in vivo* lipid peroxidation induced by vitamin E deficiency. *Lipids*, 27 : 124-128.
- Okhawa H., Ohishi N. et Yagi K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95 : 351-358.
- Rayssiguier Y., Gueux E., Bussière L., et Mazur A., 1993. Copper deficiency increases the susceptibility of lipoproteins and tissues to peroxidation in rats. *J. Nutr.* 123 : 1343-1348.

REVENDICATIONS

1. Utilisation de prébiotiques pour la préparation de préparations alimentaires,
d'aliments, ou de compositions pharmaceutiques destinés à la prévention ou au
traitement du stress oxydant.
2. Utilisation selon la revendication 1, d'au moins un oligosaccharide choisi parmi :
 - les fructanes
 - les fructo-oligosaccharides (FOS)
 - les galacto-oligosaccharides
 - les xylo-oligosaccharides
 - les oligosaccharides de soja
 - les gentio-oligosaccharides
 - les isomalto-oligosaccharides
3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, de fructo-oligosaccharides (FOS) de formule
générale Glucosyl-(Fructosyl)_n-Fructose ou (Fructosyl)_m-Fructose où n représente un
nombre entier de 1 à 8, notamment de 1 à 5, et m représente un nombre entier de 1 à
8, notamment de 1 à 5, tels que les FOS à chaîne courte 1-kestose, nystose ou
fructosyl-nystose.
4. Utilisation de prébiotiques selon l'une des revendications 1 à 3, dans le cadre de la
prévention ou du traitement du stress oxydant lié à la consommation de sucres.
5. Utilisation de prébiotiques selon l'une des revendications 1 à 4, dans le cadre de la
prévention ou du traitement du stress oxydant lié à la consommation de fructose.
6. Utilisation de prébiotiques selon l'une des revendications 1 à 5, dans le cadre de la
prévention ou du traitement du stress oxydant dû à une consommation de fructose
alimentaire supérieure à environ 50 g/jour en moyenne.

7. Utilisation de prébiotiques selon l'une des revendications 1 à 6, pour laquelle lesdits prébiotiques sont administrés à une dose journalière d'environ 1 g à environ 20 g, notamment d'environ 2 g à environ 17 g, notamment d'environ 5 g à environ 15 g.
- 5 8. Utilisation de prébiotiques selon l'une des revendications 1 à 7, en tant que composés ayant un effet antiradicalaire dans le cadre de la prévention ou du traitement du stress oxydant.
9. Utilisation de prébiotiques selon l'une des revendications 1 à 8, en tant que composés
10 ayant un effet anti-vieillessement lié à un effet de protection des cellules de l'organisme contre l'action des radicaux libres.
10. Préparation alimentaire comprenant un mélange de fructo-oligosaccharides (FOS), tels que définis dans la revendication 3, comprenant 64% de Glucosyl-(Fructosyl)_n-Fructose et 36% de (Fructosyl)_m-Fructose, de degrés de polymérisation moyens 4,8, la
15 proportion en poids desdits FOS présents dans ladite préparation variant entre 10% et 100%, et étant notamment d'environ 15% à environ 35%, préférablement d'environ 20%, par rapport à la quantité de fructose présent dans ladite préparation.